

5

Rastermikroskop

Die Erfindung betrifft ein Rastermikroskop mit mindestens einer Lichtquelle, die einen Beleuchtungsstrahlengang definiert und mit einem Spektraldetektor
10 zum Detektieren des von der Probe ausgehenden Detektionslichtes, der einen Detektionsstrahlengang definiert und der ein spektral aufspaltendes Bauteil beinhaltet.

In der Rastermikroskopie wird eine Probe mit einem Lichtstrahl beleuchtet, um das von der Probe emittierte Reflexions- oder Fluoreszenzlicht zu beobachten.
15 Der Fokus eines Beleuchtungslichtstrahles wird mit Hilfe einer steuerbaren Strahlablenkeinrichtung, im Allgemeinen durch Verkippen zweier Spiegel, in einer Objektebene bewegt, wobei die Ablenkachsen meist senkrecht aufeinander stehen, so dass ein Spiegel in x-, der andere in y-Richtung ablenkt. Die Verkipfung der Spiegel wird beispielsweise mit Hilfe von
20 Galvanometer-Stellelementen bewerkstelligt. Die Leistung des vom Objekt kommenden Lichtes wird in Abhängigkeit von der Position des Abtaststrahles gemessen. Üblicherweise werden die Stellelemente mit Sensoren zur Ermittlung der aktuellen Spiegelstellung ausgerüstet.

Speziell in der konfokalen Rastermikroskopie wird ein Objekt mit dem Fokus
25 eines Lichtstrahles in drei Dimensionen abgetastet.

Ein konfokales Rastermikroskop umfasst im Allgemeinen eine Lichtquelle, eine Fokussieroptik, mit der das Licht der Quelle auf eine Lochblende – die sog. Anregungsblende - fokussiert wird, einen Strahlteiler, eine Strahlablenkeinrichtung zur Strahlsteuerung, eine Mikroskopoptik, eine

Hf

Detektionsblende und die Detektoren zum Nachweis des Detektions- bzw. Fluoreszenzlichtes. Das Beleuchtungslicht wird oft über den Strahlteiler, der beispielsweise als Neutralstrahlteiler oder als dichroitischer Strahlteiler ausgeführt sein kann, eingekoppelt. Neutralstrahlteiler haben den Nachteil, dass je nach Teilungsverhältnis viel Anregungs- oder viel Detektionslicht verloren geht.

Das vom Objekt kommende Fluoreszenz- oder Reflexionslicht gelangt über die Strahlableitvorrichtung zurück zum Strahlteiler, passiert diesen, um anschließend auf die Detektionsblende fokussiert zu werden, hinter der sich die Detektoren befinden. Detektionslicht, das nicht direkt aus der Fokusregion stammt, nimmt einen anderen Lichtweg und passiert die Detektionsblende nicht, so dass man eine Punktinformation erhält, die durch sequentielles Abtasten des Objekts zu einem dreidimensionalen Bild führt. Meist wird ein dreidimensionales Bild durch schichtweise Bilddatennahme erzielt, wobei die Bahn des Abtastlichtstrahles auf bzw. in dem Objekt idealerweise einen Mäander beschreibt. (Abtasten einer Zeile in x-Richtung bei konstanter y-Position, anschließend x-Abtastung anhalten und per y-Verstellung auf die nächste abzutastende Zelle schwenken und dann, bei konstanter y-Position, diese Zeile in negative x-Richtung abtasten u.s.w.). Um eine schichtweise Bilddatennahme zu ermöglichen, wird der Probenstisch oder das Objektiv nach dem Abtasten einer Schicht verschoben und so die nächste abzutastende Schicht in die Fokusebene des Objektivs gebracht.

Bei vielen Anwendungen werden Proben mit mehreren Markern, beispielsweise mehreren unterschiedlichen Fluoreszenzfarbstoffen präpariert. Diese Farbstoffe können sequentiell, beispielsweise mit Beleuchtungslichtstrahlen, die unterschiedliche Anregungswellenlängen aufweisen, angeregt werden. Auch eine simultane Anregung mit einem Beleuchtungslichtstrahl, der Licht mehrerer Anregungswellenlängen beinhaltet, ist üblich. Aus der Europäischen Patentanmeldung EP 0 495 930: „Konfokales Mikroskopsystem für Mehrfarbenfluoreszenz“ ist beispielsweise eine Anordnung mit einem einzelnen mehrere Laserlinien emittierenden Laser

Hi

bekannt. Derzeit sind in der Praxis solche Laser meist als Mischgaslaser, insbesondere als ArKr-Laser, ausgebildet.

Zur simultanen Detektion des von der Probe ausgehenden Detektionslichtes werden oft Multibanddetektoren eingesetzt. Aus der Offenlegungsschrift DE 4330347 A1 ist eine Vorrichtung zur Selektion und Detektion mindestens
5 zweier Spektralbereiche eines Lichtstrahls, mit einer Selektionseinrichtung und einer Detektionseinrichtung bekannt. Die Vorrichtung ist zur zuverlässigen gleichzeitigen Selektion und Detektion unterschiedlicher Spektralbereiche bei hoher Ausbeute und bei einfachster Konstruktion derart ausgestaltet, dass die
10 Selektionseinrichtung Bauteil zur spektralen Aufspaltung des Lichtstrahls - beispielsweise ein Prisma oder ein Gitter - und Mittel einerseits zum Ausblenden eines ersten Spektralbereichs und andererseits zur Reflexion zumindest eines Teils des nicht ausgeblendeten Spektralbereichs und die
15 Detektionseinrichtung einen im Strahlengang des ausgeblendeten ersten Spektralbereichs angeordneten ersten Detektor und einen im Strahlengang des reflektierten Spektralbereichs angeordneten zweiten Detektor umfasst. Als Mittel zum Ausblenden eines ersten Spektralbereichs und andererseits zur
Reflexion zumindest eines Teils des nicht ausgeblendeten Spektralbereichs ist vorzugsweise eine Spaltblendenvorrichtung mit verspiegelten Blendenbacken
20 vorgesehen. Die Vorrichtung ist insbesondere als Multibanddetektor in einem Rastermikroskop einsetzbar.

Aus der Deutschen Offenlegungsschrift DE 198 42 288 A1 ist eine Vorrichtung zur einstellbaren Einkopplung und/oder Detektion einer oder mehrerer Wellenlängen in einem Mikroskop bekannt. Die Vorrichtung besteht aus
25 mindestens einem dispersiven Element zur Wellenlängenseparation des Beleuchtungslichts sowie mindestens einem im wellenlängenseparierten Teil des Beleuchtungslichts angeordneten, zumindest teilweise reflexiven Element zur Rückreflexion mindestens eines Wellenlängenbereichs in Richtung der
Mikroskopbeleuchtung. Außerdem sind zur einstellbaren Detektion im
30 wellenlängenseparierten Teil des Objektlichtes Mittel zur einstellbaren Ausblendung mindestens eines Wellenlängenbereichs und Mittel zur Ablenkung des ausgeblendeten Wellenlängenbereichs in Richtung

Hf

mindestens eines Detektors vorgesehen. Nicht zuletzt aufgrund der Variabilität in Bezug auf die auszublendenden Wellenlängenbereiche ist die Vorrichtung apparativ sehr aufwendig und kompliziert.

5 Aus der Patentschrift DE 195 10 102 C1 ist ein halbkonfokales Fluoreszenzmikroskop bekannt, bei der das Beleuchtungslicht einer Lichtquelle mit Hilfe einer Spektrometeranordnung spektral zerlegt und über eine Wellenlängenselektionsblende und eine weitere Spektrometeranordnung zur streifenförmigen Beleuchtung auf eine Probe gelenkt wird. Das von der Probe ausgehende Detektionslicht wird von der weiteren
10 Spektrometeranordnung spektral zerlegt und über die Wellenlängenselektionsblende und eine dritte Spektrometeranordnung nach Passieren einer Streifenlochblende einer Detektoranordnung zugeführt. Die Wellenlängenselektionsblende ist zur Einstellung der jeweiligen Wellenlängenbereiche verschiebbar angeordnet. Die Anordnung ist
15 insbesondere dadurch, dass zumindest drei Spektrometeranordnungen notwendig sind, konstruktiv aufwendig und schwer zu justieren.

Es ist Aufgabe der vorliegenden Erfindung ein Rastermikroskop anzugeben, das bei einfacher Bauweise sowohl die Einkopplung von Beleuchtungslicht vorzugsweise mehrerer Wellenlängen, als auch die Detektion von
20 Detektionslicht in mehreren Wellenlängenbereichen gestattet.

Diese Aufgabe wird durch ein Rastermikroskop gelöst, das dadurch gekennzeichnet ist, dass das spektral aufspaltende Bauteil den Beleuchtungs- und den Detektionsstrahlengang trennt.

Die Erfindung hat den Vorteil, dass ein in vielen Gerätetypen vorhandenes
25 Bauteil, nämlich das Bauteil zur spektralen Aufspaltung des Detektionslichtes, gleichzeitig zur Einkopplung des Beleuchtungslichtes verwendet wird, wodurch die Verwendung von weiteren teuren, den Strahlengang verkomplizierenden Bauteilen weitgehend vermieden ist. Vorteilhafterweise übernimmt bei dem erfindungsgemäßen Rastermikroskop das spektral
30 aufspaltende Bauteil die Funktion des Hauptstrahlteilers, nämlich die Separation von Beleuchtungsstrahlengang und Detektionsstrahlengang, wobei

HI

die bei Hauptstrahlteilern auf der Basis von Neutralstrahlteilern auftretenden Probleme, nämlich die enormen Verluste an Lichtleistung, nicht auftreten.

In einer besonderen Ausgestaltungsform ist das spektral aufspaltende Bauteil als Gitter ausgebildet, das einerseits das Beleuchtungslicht empfängt und zur
5 Probe weiterleitet und andererseits das von der Probe ausgehende Licht durch Beugung spektral aufspaltet und den Detektoren zuführt.

In einer bevorzugten Ausgestaltung des Rastermikroskops ist das spektral aufspaltende Bauteil als Prisma ausgebildet.

Vorzugsweise ist eine Grenzfläche des Prismas zumindest teilweise
10 reflektierend beschichtet. In einer besonderen Ausgestaltungsform durchläuft das Detektionslicht zur spektralen Aufspaltung das Prisma und wird dabei intern an den reflektierend beschichteten Teilen der Grenzfläche reflektiert. Neben bzw. zwischen den reflektierend beschichteten Teilen der Grenzfläche ist keine oder vorzugsweise eine Antireflexbeschichtung vorgesehen, durch
15 die das Beleuchtungslicht eingekoppelt wird.

In einer anderen Variante trifft das Beleuchtungslicht auf die reflektierend beschichteten Teile der Grenzfläche und das Detektionslicht auf die nicht bzw. antireflexbeschichteten Teile der Grenzfläche.

In einer bevorzugten Ausgestaltungsform sind die reflektierend beschichteten
20 Teile der Grenzfläche und die nicht reflektierend beschichteten Teile der Grenzfläche abwechselnd nebeneinander angeordnet. Erfindungsgemäß wird hierbei die Tatsache ausgenutzt, dass aufgrund der Stokes-Shift bei fluoreszierenden Proben die Beleuchtungslichtwellenlänge gegen die Detektionslicht-Wellenlänge spektral verschoben ist, beispielsweise durch
25 Verschieben des Prismas entlang der Grenzfläche und senkrecht zur Aufspaltungsrichtung des Detektionslichts wird eine Einstellbarkeit der Beleuchtungs/Detektionswellenlängenbereiche ermöglicht.

In einer ganz besonders bevorzugten Ausgestaltungsform ist zur Erzielung einer besonders stabilen und kompakten einfachen Bauweise das spektral
30 aufspaltende Bauteil ortsfest angeordnet, wodurch die Anzahl und die Wellenlänge der zu verwendeten Beleuchtungslinien zwar unveränderbar

Hf

festgelegt ist, was jedoch für die Mehrzahl der mikroskopischen Anwendungen absolut ausreicht.

5 Durch Verschieben des bzw. der Beleuchtungslichtstrahlen relativ zu den beschichteten bzw. nicht beschichteten Teilen der Grenzflächen, kann auf einfache Weise eine Leistungsregulierung vorgenommen werden. Hierbei wird der bzw. werden die Beleuchtungslichtstrahlen seitlich beschnitten.

Vorzugsweise sind die Teile der Grenzfläche, über die das Beleuchtungslicht eingekoppelt wird, ca. 100 µm breit. Vorzugsweise ist das Verhältnis der Breiten der Teile der Grenzfläche, über die das Detektionslicht zu den
10 Detektoren gelangt zu den Teilen der Grenzfläche, über die das Beleuchtungslicht eingekoppelt wird, möglichst groß, um möglichst kleine Lücken im Detektionsspektrum zu haben.

In einer anderen besonders bevorzugten Ausführungsvariante wird entweder das Detektionslicht oder das Beleuchtungslicht total intern reflektiert. Bei
15 dieser Variante ist keine reflektierende Beschichtung nötig. Vorzugsweise ist hierfür die Grenzfläche des Prismas gestuft oder sägezahnförmig strukturiert, so dass beispielsweise das Detektionslicht unter einem Winkel auf die Grenzfläche trifft, der eine total interne Reflektion hervorruft, während das Beleuchtungslicht unter einem Winkel auftrifft, der eine Transmission erlaubt.
20 Selbstverständlich ist es auch möglich, dass umgekehrt das Beleuchtungslicht total intern reflektiert wird, während das Detektionslicht transmittiert wird.

In einer anderen Variante trägt die Grenzfläche Stege aus einem Material, das einen anderen Brechungsindex als das Prisma aufweist. Hierdurch wird auf
25 einfache Weise eine Konfiguration erzeugt, bei der Bereiche der Grenzfläche mit total interner Reflektion und nicht total interner Reflektion nebeneinander angeordnet sind.

In einer bevorzugten Ausgestaltung beinhaltet das Beleuchtungslicht beispielsweise drei ausgewählte Laserlinien (z.B. 488nm, 560nm und 633nm, oder irgendeine andere Kombination, die vorzugsweise fest vorgegeben ist).
30 Diese werden durch die beschichtete Grenzfläche im passenden Winkel in das Prisma eingekoppelt und somit kollinear zum Detektionsstrahlengang. Der

Hf

Beleuchtungslichtstrahlengang verläuft dann in umgekehrter Richtung, passiert das Beleuchtungs- und Detektionspinhole (die in dieser Variante identisch sind), gelangt zur Strahlableitvorrichtung und wird über Tubus- und Scanlinse durch das Objektiv auf die Probe gelenkt.

- 5 Es können auch Beleuchtungslicht von vier Laserlinien oder mehr verwendet werden, was beispielsweise bei Rastermikroskopen auf der Basis von Strahlteilern nicht möglich ist, da es zur Zeit keine multichroitischen Strahlteiler gibt, mit denen man Beleuchtungslicht von vier Laserlinien oder mehr gleichzeitig ein Mikroskop einkoppeln kann.

- 10 Vorteilhafter Weise ist erfindungsgemäß auch zusätzlich die Einkopplung von Beleuchtungslicht mit einer Wellenlänge von 532 nm ermöglicht, was mit herkömmlichen Strahlteilern ebenfalls nicht realisierbar ist, da die 532 nm - Linie zu dicht zwischen den Ar-Linien ist.

- Vorzugsweise beträgt die räumliche Breite des aufgespaltenen
15 Detektionslichtes an der Grenzfläche ca. 1 cm bei einer spektralen Breite von etwa 400 nm entspricht. Durch 100µm breite nicht – oder antireflexbeschichtete Einkoppelschlitze werden folglich jeweils nur 4nm würden dem Detektionsspektrum herausgeschnitten, was für die meisten Anwendungen akzeptabel ist. Außerdem gelangt reflektiertes
20 Beleuchtungslicht über dieselbe Grenzfläche zum Laser zurück und wird somit vorteilhafter Weise aus dem Detektionsstrahlengang ausgekoppelt.

- Denkbar ist auch die Verwendung anderer Prismen oder anderer Prismentypen, bei dem die räumlich spektrale Aufspaltung an der Grenzfläche größer ist, so dass das Beleuchtungslicht nicht so stark auf die nicht
25 reflektierenden Teile, nämlich die Einkoppelschlitze, der Grenzfläche fokussiert werden müssen.

In einer ganz besonders bevorzugten Ausgestaltung ist das Rastermikroskop als konfokales Rastermikroskop ausgebildet.

- In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und
30 wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben, wobei gleich wirkende Bauteile mit denselben Bezugszeichen versehen sind. Dabei zeigen:

Hf

Fig. 1 Ein erfindungsgemäße Rastermikroskop,

Fig. 2 eine Detailansicht eines erfindungsgemäßen Rastermikroskops,

Fig. 3 eine Detailansicht eines spektral aufspaltenden Bauteils
5 und

Fig. 4 eine Detailansicht eines weiteren spektral aufspaltenden Bauteils.

Fig. 1 zeigt ein erfindungsgemäßes Rastermikroskop mit einer ersten
Lichtquelle 1, die einen ersten Beleuchtungslichtstrahl 3, der eine Wellenlänge
10 von 488 nm aufweist, erzeugt und mit einer zweiten Lichtquelle 5, die einen
zweiten Beleuchtungslichtstrahl 7, der eine Wellenlänge von 560 nm aufweist,
erzeugt und mit einer dritten Lichtquelle 9, die einen dritten
Beleuchtungslichtstrahl 11, der eine Wellenlänge von 633 nm aufweist,
15 erzeugt. Die Beleuchtungslichtstrahlen 3, 7 und 11 (gestrichelt dargestellt)
treffen auf die teilweise beschichtete Grenzfläche 13 des spektral
aufspaltenden Bauteils 15, das als Prisma 17 ausgeführt ist. Die Grenzfläche
13 des Prismas 17 weist reflektierende und nicht reflektierende Bereiche auf.
Die Beleuchtungslichtstrahlen 3, 7 und 11 treffen zwischen den
20 reflektierenden Bereichen auf nicht reflektierende Bereiche, so dass die
Beleuchtungslichtstrahlen 3, 7, 11 in das Prisma transmittiert werden und
nach dem Austreten durch eine andere Grenzfläche des Prismas und nach
Passieren der Feldlinse 19 durch die Lochblende 21 kollinear vereinigt zu der
Strahlablenkeinrichtung 23, die einen kardanisch aufgehängten Scanspiegel
25 beinhaltet, gelangt. Die Strahlablenkeinrichtung 23 führt die kollinear
vereinigten Beleuchtungslichtstrahlen 3, 7, 11 durch die Scanlinse 27 und die
Tubuslinse 29 sowie durch das Objektiv 31 durch bzw. über die Probe 33. Das
von der Probe ausgehende Detektionslicht 35 gelangt auf dem selben
Lichtweg, nämlich durch das Objektiv 31, die Tubuslinse 29, die Scanlinse 27
und über die Strahlablenkeinrichtung 23 zurück zur Lochblende 21, passiert
30 diese und wird nach Durchlaufen der Feldlinse 19 von dem Prisma 17
räumlich spektral aufgespalten. Beim Durchlaufen des Prismas 17 wird das

Hi

Detektionslicht an der Grenzfläche 13 von den reflektierend beschichteten Teilen intern reflektiert und tritt räumlich spektral aufgespalten durch eine dritte Grenzfläche aus dem Prisma 17 aus, um zu den nicht gezeigten Detektoren zu gelangen.

- 5 Fig. 2 zeigt eine Detailansicht des erfindungsgemäßen Rastermikroskops, das in Fig. 1 dargestellt ist. Die Grenzfläche 13 des Prismas weist reflektierende Bereiche 37, an denen das Detektionslicht intern reflektiert wird, und antireflexbeschichtete Bereiche 39, durch die die Beleuchtungslichtstrahlen 3, 7 und 11 eingekoppelt werden, auf. Die Lochblende 21 dient in dieser
10 Konfiguration sowohl als Beleuchtungs- als auch als Detektionslochblende.

- Fig. 3 zeigt eine Detailansicht des spektral aufspaltenden Bauteils 15 in Seitenansicht und in Ansicht auf die beschichtete Grenzfläche 13. Abwechselnd finden sich auf der Grenzfläche 13 reflektierende Bereiche 37 und nicht reflektierende Bereiche, die antireflexbeschichtet sind 39. Die Breite
15 der nicht reflektierenden Bereiche 39 ist im Verhältnis zur Breite der reflektierenden Bereiche übertrieben groß dargestellt. Um große Lücken im Detektionsspektrum zu vermeiden, beträgt die Breite der nicht reflektierenden Bereiche nur Bruchteile von mm, während die Breite der reflektierenden Bereiche im Bereich von Bruchteilen von Zentimetern liegt.

- 20 Fig. 4 zeigt eine Detailansicht eines weiteren spektral aufspaltenden Bauteils, dass ebenfalls als Prisma ausgeführt ist. Die Grenzfläche 13 weist eine Sägezahnstruktur 41 auf. Bei dieser Variante wird das Detektionslicht total intern reflektiert, während das Beleuchtungslicht die Grenzfläche 13 an den Stellen passiert, an denen der Grenzwinkel der Totalreflexion aufgrund der
25 Sägezahnstruktur nicht vorliegt.

Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

30

HI

Bezugszeichenliste:

	1	erste Lichtquelle
	3	erster Beleuchtungslichtstrahl
5	5	zweite Lichtquelle
	7	zweiter Beleuchtungslichtstrahl
	9	dritte Lichtquelle
	11	dritter Beleuchtungslichtstrahl
	13	Grenzfläche
10	15	spektral aufspaltendes Bauteil
	17	Prisma
	19	Feldlinse
	21	Lochblende
	23	Strahlablenkeinrichtung
15	25	Scanspiegel
	27	Scanlinse
	29	Tubuslinse
	31	Objektiv
	33	Probe
20	35	Detektionslicht
	37	reflektierende Bereiche
	39	antireflexbeschichtete Bereiche
	41	Sägezahnstruktur

25

HI

Patentansprüche

1. Rastermikroskop mit mindestens einer Lichtquelle, die einen Beleuchtungsstrahlengang definiert und mit einem Spektraldetektor zum Detektieren des von der Probe ausgehenden Detektionslichtes, der einen
5 Detektionsstrahlengang definiert und der ein spektral aufspaltendes Bauteil beinhaltet, dadurch gekennzeichnet, dass das spektral aufspaltende Bauteil den Beleuchtungs- und den Detektionsstrahlengang trennt.
2. Rastermikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das spektral aufspaltende Bauteil ein Gitter beinhaltet.
- 10 3. Rastermikroskop nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass das spektral aufspaltende Bauteil ein Prisma beinhaltet.
4. Rastermikroskop nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass eine Grenzfläche des Prisma zumindest teilweise reflektierend beschichtet ist.
5. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 3 oder 4, dadurch
15 gekennzeichnet, dass die Grenzfläche das Detektionslicht oder das Beleuchtungslicht intern reflektiert.
6. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 3 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die Grenzfläche das Beleuchtungslicht oder das Detektionslicht transmittiert.
- 20 7. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 4 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das Detektionslicht auf reflektierend beschichtete Teile der Grenzfläche auftrifft und dass das Beleuchtungslicht auf nicht reflektierend beschichtete Teile der Grenzfläche auftrifft.
8. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 4 bis 7, dadurch
25 gekennzeichnet, dass das Beleuchtungslicht auf reflektierend beschichtete Teile der Grenzfläche auftrifft und dass das Detektionslicht auf nicht reflektierend beschichtete Teile der Grenzfläche auftrifft.

HI

9. Rastermikroskop nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass die nicht reflektierend beschichtete Teile der Grenzfläche eine Antireflexbeschichtung aufweisen.
10. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 4 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass reflektierend beschichtete Teile der Grenzfläche und nicht reflektierend beschichtete Teile der Grenzfläche abwechselnd nebeneinander angeordnet sind.
11. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 4 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass die Grenzfläche dichroitisch beschichtet ist.
12. Rastermikroskop nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass eine Grenzfläche des Prismas gestuft oder sägezahnförmig strukturiert ist.
13. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 3 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Grenzfläche das Detektionslicht oder das Beleuchtungslicht total intern reflektiert.
14. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 12 oder 13, dadurch gekennzeichnet, dass sich total intern reflektierende Teile der Grenzfläche und nicht total intern reflektierende Teile der Grenzfläche abwechselnd nebeneinander angeordnet sind.
15. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 13 oder 14, dadurch gekennzeichnet, dass eine Grenzfläche Stege aus einem Material trägt, das einen anderen Brechungsindex als das Prisma aufweist.
16. Rastermikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass das Rastermikroskop ein konfokales Rastermikroskop ist.

25

Hi

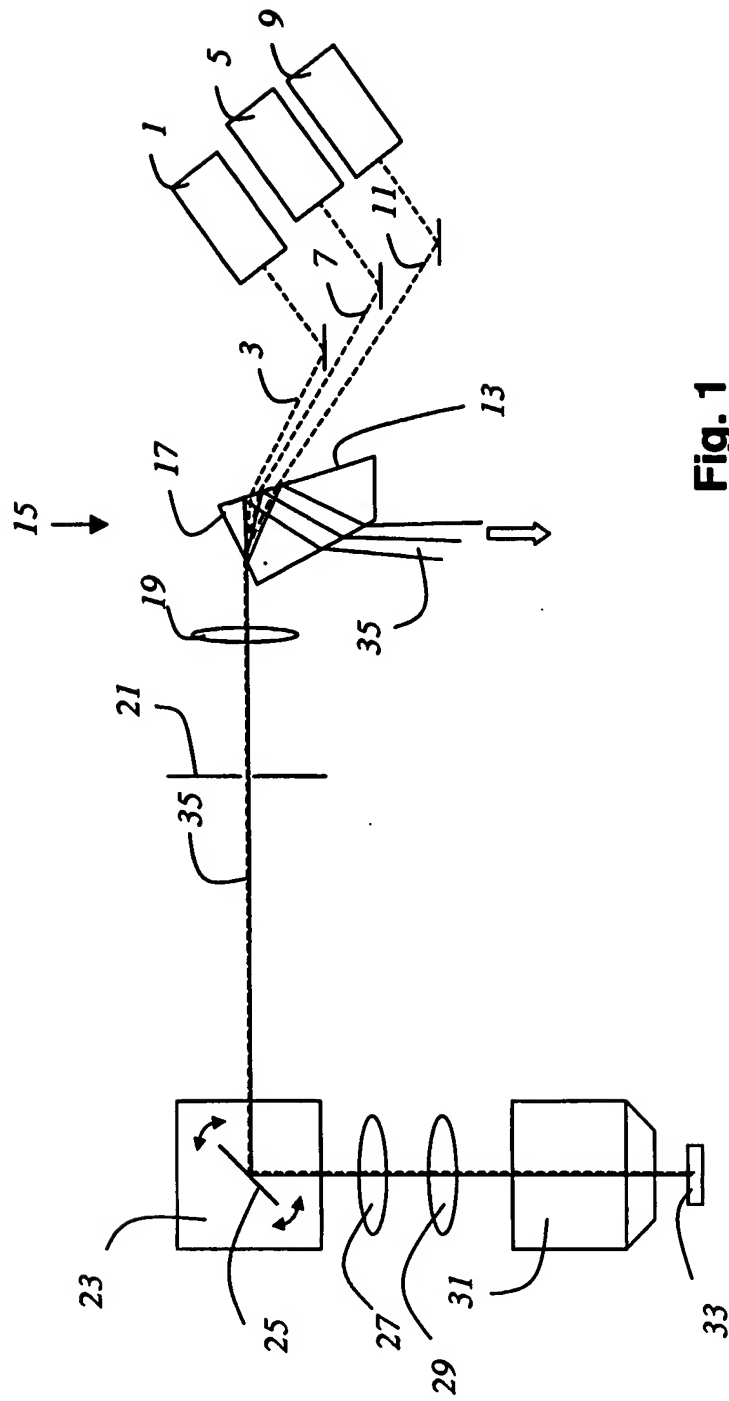


Fig. 1

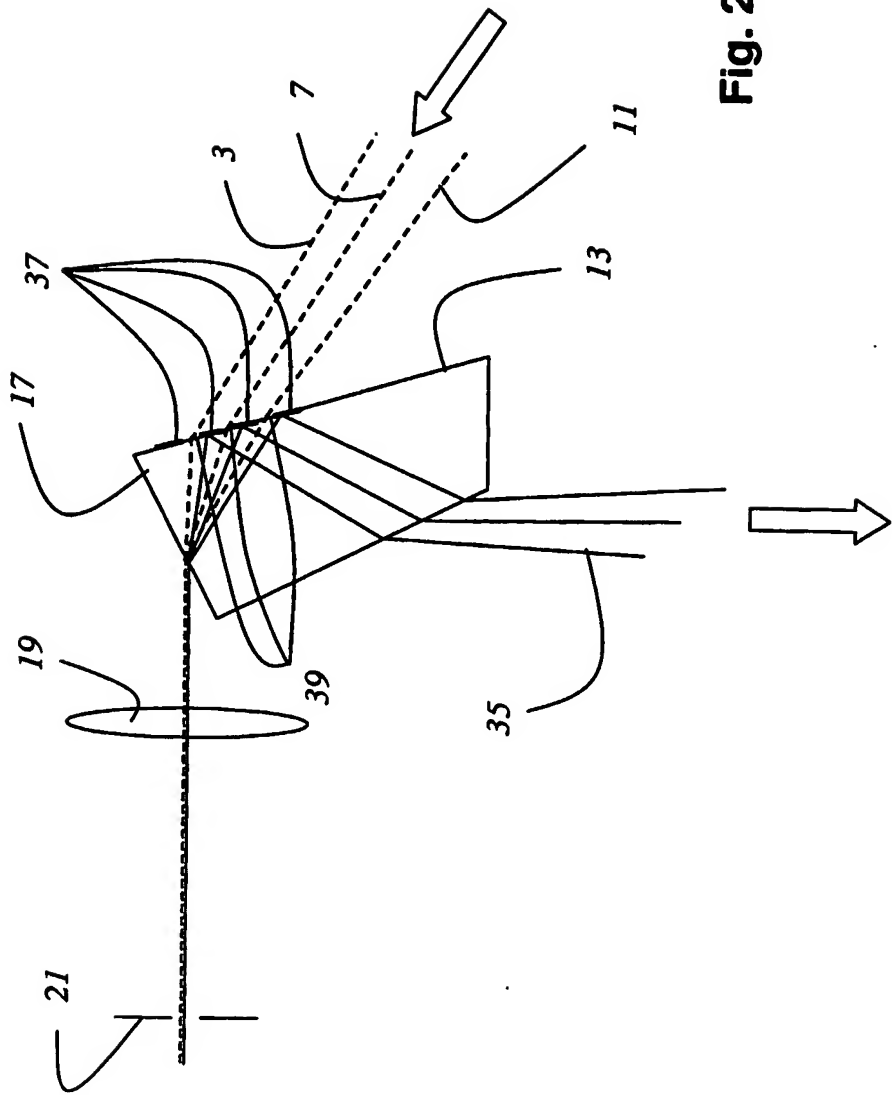


Fig. 2

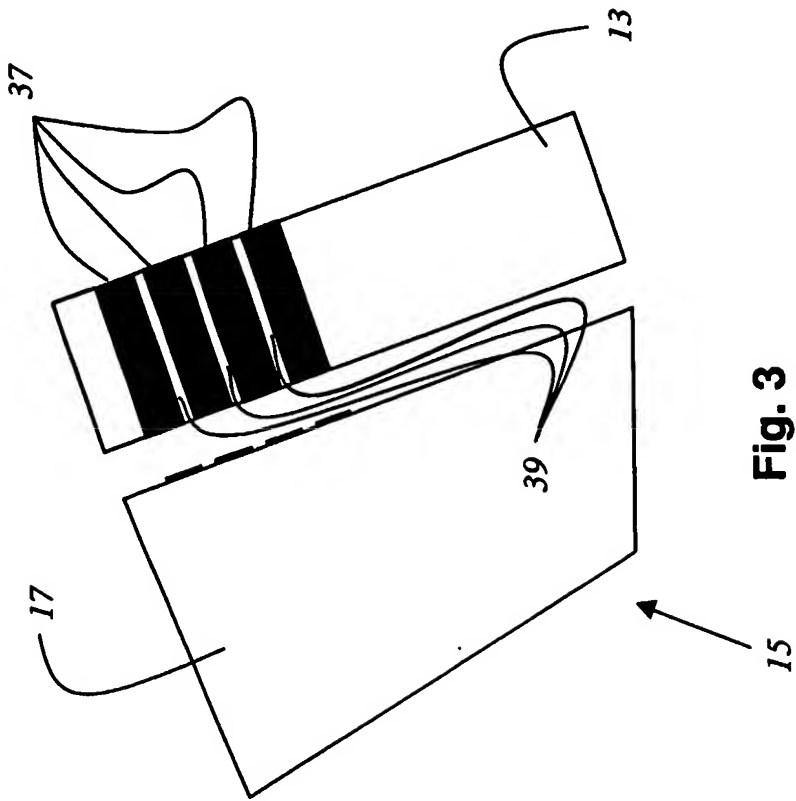


Fig. 3

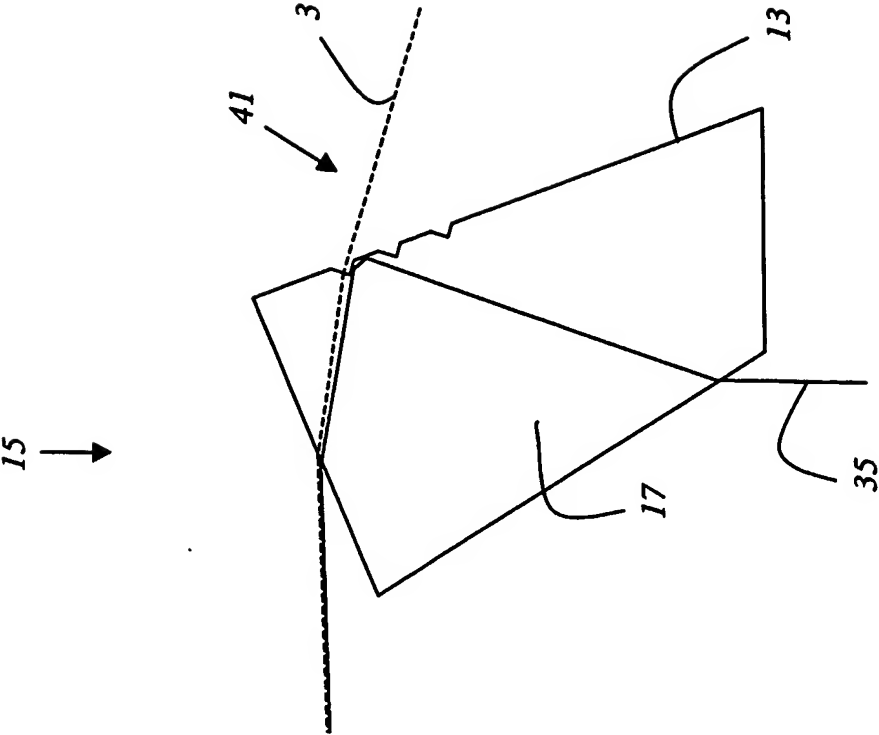


Fig. 4

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/EP2004/051606

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
IPC 7 G02B21/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
IPC 7 G02B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 02/14811 A (DRABENSTEDT ALEXANDER ; MG MICROSCOPE GMBH (DE)) 21 February 2002 (2002-02-21) page 9; figure 3 page 2 - page 8; figure 1 -----	1-3,6,9, 16
X	DE 100 04 191 A (AXON INSTR INC) 7 December 2000 (2000-12-07) column 9, line 53 - line 66; figures 1,8 column 9, line 47 - line 52; figure 7 column 10, line 36 - line 51; figure 10 -----	1,3,5,6, 12-14
A		7,9,10
A		11
X	DE 198 59 314 A (ZEISS CARL JENA GMBH) 29 June 2000 (2000-06-29) column 1, line 3 - line 51; figure 1 column 2, line 10 - line 19; figure 3 -----	1,3,4,6, 16
	----- -/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

G document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

18 November 2004

Date of mailing of the international search report

25/11/2004

Name and mailing address of the ISA
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Jacobs, A

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/EP2004/051606

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 2002/097485 A1 (AOSHIMA MIKIO) 25 July 2002 (2002-07-25) paragraph '0079! - paragraph '0090!; figure 4 figure 1 -----	1,3-6,8, 9,11,13, 15,16
X	DE 202 06 153 U (LEICA MICROSYSTEMS) 27 June 2002 (2002-06-27) page 5, line 28 - page 6, line 28; figure 1 -----	1,3-6, 11,13,16
X	WO 03/012516 A (BIRK HOLGER ; LEICA MICROSYSTEMS (DE)) 13 February 2003 (2003-02-13) page 7, line 30 - page 9, line 25; figure 1 -----	1,16
X	US 2003/133189 A1 (ENGELHARDT JOHANN ET AL) 17 July 2003 (2003-07-17) paragraph '0047!; figure 4 abstract -----	1,2,16
X,P	WO 03/090613 A (HARRIS MARTIN ; OPTISCAN PTY LTD (AU)) 6 November 2003 (2003-11-06) pages 11,12,16; figure 4D -----	1,3,16
X	EP 0 495 930 A (UNIV MINNESOTA) 29 July 1992 (1992-07-29) cited in the application figure 2 -& WO 92/02839 A (UNIV MINNESOTA) 20 February 1992 (1992-02-20) -----	1,16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/EP2004/051606

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO 0214811	A	21-02-2002	WO	0214811 A1	21-02-2002
			AU	7276900 A	25-02-2002
DE 10004191	A	07-12-2000	US	6628385 B1	30-09-2003
			DE	10004191 A1	07-12-2000
			US	2004042007 A1	04-03-2004
DE 19859314	A	29-06-2000	DE	19859314 A1	29-06-2000
			DE	19936573 A1	08-02-2001
			WO	0037985 A2	29-06-2000
			EP	1141763 A1	10-10-2001
			JP	2002533747 T	08-10-2002
US 2002097485	A1	25-07-2002	JP	2002214533 A	31-07-2002
DE 20206153	U	27-06-2002	DE	20206153 U1	27-06-2002
			US	2003197119 A1	23-10-2003
WO 03012516	A	13-02-2003	DE	10137155 A1	27-02-2003
			WO	03012516 A1	13-02-2003
			EP	1421427 A1	26-05-2004
			US	2004174585 A1	09-09-2004
US 2003133189	A1	17-07-2003	WO	9942884 A1	26-08-1999
			DE	19906757 A1	02-12-1999
			EP	1055144 A1	29-11-2000
			JP	2002504708 T	12-02-2002
			US	6510001 B1	21-01-2003
WO 03090613	A	06-11-2003	WO	03090613 A1	06-11-2003
EP 0495930	A	29-07-1992	US	5127730 A	07-07-1992
			AT	179527 T	15-05-1999
			CA	2067188 A1	11-02-1992
			DE	69131176 D1	02-06-1999
			DE	69131176 T2	30-12-1999
			DE	495930 T1	25-02-1993
			DK	495930 T3	08-11-1999
			EP	0495930 A1	29-07-1992
			ES	2133283 T3	16-09-1999
			JP	2824462 B2	11-11-1998
			JP	5501458 T	18-03-1993
			WO	9202839 A1	20-02-1992
WO 9202839	A	20-02-1992	US	5127730 A	07-07-1992
			AT	179527 T	15-05-1999
			CA	2067188 A1	11-02-1992
			DE	69131176 D1	02-06-1999
			DE	69131176 T2	30-12-1999
			DE	495930 T1	25-02-1993
			DK	495930 T3	08-11-1999
			EP	0495930 A1	29-07-1992
			ES	2133283 T3	16-09-1999
			JP	2824462 B2	11-11-1998
			JP	5501458 T	18-03-1993
			WO	9202839 A1	20-02-1992

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/051606

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES
IPK 7 G02B21/00

Nach der internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)
IPK 7 G02B

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 02/14811 A (DRABENSTEDT ALEXANDER ; MG MICROSCOPE GMBH (DE)) 21. Februar 2002 (2002-02-21) Seite 9; Abbildung 3 Seite 2 - Seite 8; Abbildung 1 -----	1-3,6,9, 16
X	DE 100 04 191 A (AXON INSTR INC) 7. Dezember 2000 (2000-12-07) Spalte 9, Zeile 53 - Zeile 66; Abbildungen 1,8	1,3,5,6, 12-14
A	Spalte 9, Zeile 47 - Zeile 52; Abbildung 7	7,9,10
A	Spalte 10, Zeile 36 - Zeile 51; Abbildung 10 -----	11
X	DE 198 59 314 A (ZEISS CARL JENA GMBH) 29. Juni 2000 (2000-06-29) Spalte 1, Zeile 3 - Zeile 51; Abbildung 1 Spalte 2, Zeile 10 - Zeile 19; Abbildung 3 -----	1,3,4,6, 16
-/-		



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

T Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

X Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

Y Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

Z Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

18. November 2004

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

25/11/2004

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Jacobs, A

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

181/EP2004/051606

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Beitr. Anspruch Nr.
X	US 2002/097485 A1 (AOSHIMA MIKIO) 25. Juli 2002 (2002-07-25) Absatz '0079! - Absatz '0090!; Abbildung 4 Abbildung 1 -----	1,3-6,8, 9,11,13, 15,16
X	DE 202 06 153 U (LEICA MICROSYSTEMS) 27. Juni 2002 (2002-06-27) Seite 5, Zeile 28 - Seite 6, Zeile 28; Abbildung 1 -----	1,3-6, 11,13,16
X	WO 03/012516 A (BIRK HOLGER ; LEICA MICROSYSTEMS (DE)) 13. Februar 2003 (2003-02-13) Seite 7, Zeile 30 - Seite 9, Zeile 25; Abbildung 1 -----	1,16
X	US 2003/133189 A1 (ENGELHARDT JOHANN ET AL) 17. Juli 2003 (2003-07-17) Absatz '0047!; Abbildung 4 Zusammenfassung -----	1,2,16
X,P	WO 03/090613 A (HARRIS MARTIN ; OPTISCAN PTY LTD (AU)) 6. November 2003 (2003-11-06) Seiten 11,12,16; Abbildung 4D -----	1,3,16
X	EP 0 495 930 A (UNIV MINNESOTA) 29. Juli 1992 (1992-07-29) in der Anmeldung erwähnt Abbildung 2 -& WO 92/02839 A (UNIV MINNESOTA) 20. Februar 1992 (1992-02-20) -----	1,16

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2004/051606

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung
WO 0214811	A	21-02-2002	WO	0214811 A1	21-02-2002
			AU	7276900 A	25-02-2002
DE 10004191	A	07-12-2000	US	6628385 B1	30-09-2003
			DE	10004191 A1	07-12-2000
			US	2004042007 A1	04-03-2004
DE 19859314	A	29-06-2000	DE	19859314 A1	29-06-2000
			DE	19936573 A1	08-02-2001
			WO	0037985 A2	29-06-2000
			EP	1141763 A1	10-10-2001
			JP	2002533747 T	08-10-2002
US 2002097485	A1	25-07-2002	JP	2002214533 A	31-07-2002
DE 20206153	U	27-06-2002	DE	20206153 U1	27-06-2002
			US	2003197119 A1	23-10-2003
WO 03012516	A	13-02-2003	DE	10137155 A1	27-02-2003
			WO	03012516 A1	13-02-2003
			EP	1421427 A1	26-05-2004
			US	2004174585 A1	09-09-2004
US 2003133189	A1	17-07-2003	WO	9942884 A1	26-08-1999
			DE	19906757 A1	02-12-1999
			EP	1055144 A1	29-11-2000
			JP	2002504708 T	12-02-2002
			US	6510001 B1	21-01-2003
WO 03090613	A	06-11-2003	WO	03090613 A1	06-11-2003
EP 0495930	A	29-07-1992	US	5127730 A	07-07-1992
			AT	179527 T	15-05-1999
			CA	2067188 A1	11-02-1992
			DE	69131176 D1	02-06-1999
			DE	69131176 T2	30-12-1999
			DE	495930 T1	25-02-1993
			DK	495930 T3	08-11-1999
			EP	0495930 A1	29-07-1992
			ES	2133283 T3	16-09-1999
			JP	2824462 B2	11-11-1998
			JP	5501458 T	18-03-1993
			WO	9202839 A1	20-02-1992
WO 9202839	A	20-02-1992	US	5127730 A	07-07-1992
			AT	179527 T	15-05-1999
			CA	2067188 A1	11-02-1992
			DE	69131176 D1	02-06-1999
			DE	69131176 T2	30-12-1999
			DE	495930 T1	25-02-1993
			DK	495930 T3	08-11-1999
			EP	0495930 A1	29-07-1992
			ES	2133283 T3	16-09-1999
			JP	2824462 B2	11-11-1998
			JP	5501458 T	18-03-1993
			WO	9202839 A1	20-02-1992